บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสถานที่ทำการทดลอง

3.1.1 พืชที่ใช้ทดลองคือ ผักคะน้า (Brassica oleracea L.var. alboglabra Bailey) และผักกาดหอม (Lactuca sativa L.)

3.1.2 ดินที่ใช้ทดลองเป็นดินชั้นบน (Top Soil) ณ ระดับความลึก 15 เซนติเมตร จากพื้นที่เกษตรกรรม ตำบล บ้านฉาง อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี

3.1.3 กากตะกอนจากการบำบัดน้ำเสียชุมชนห้วยขวาง ซึ่งเก็บจาก Anaerobic Digester

3.1.4 ปุ๋ยเคมีที่ใช้ เป็นปุ๋ยสูตร 15-15-15

3.1.5 กระถางดินเผาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว จำนวน 60 กระถาง

3.1.6 อุปกรณ์ที่ใช้ในเรือนทดลอง เช่น ค้อนทุบดิน ตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร และอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็นสำหรับการปลูกพืช (เช่น พลั่ว บัวรดน้ำ เป็นต้น)

3.1.7 น้ำที่ใช้สำหรับเพาะปลูก ในน้ำที่ปราศจากอิออน (Deionized Water)

3.1.8 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ และใช้ใส่ลงในดิน เป็นชนิด Analytical Grade

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.9 เครื่องแก้วที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เช่น บิวเรต ปิเปต กระบอกตวง ปีกเกอร์ เป็นต้น

3.1.10 เครื่องมือที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เช่น

- pH Meter
- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด
- เครื่องบดเนื้อเยื่อพืช
- ชุดกลั่น Kjedahl
- เครื่องเขย่า
- เตาเผา (Muffle Furnace)
- เครื่อง Spectrophotometer ของ Uvikon รุ่น 810
- เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ของ Perkin Elmer รุ่น 4000

3.1.11 สถานที่ทำการทดลอง เรือนทดลอง (Greenhouse) ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 <u>วิธีดำเนินการทดลอง</u>

3.2.1 <u>การวางแผนการทดลอง</u> (Experimental Design)

สำหรับการทดลองในวิทยานิพนธ์นี้วางแผนการทดลองแบบ 2 X 4 factorial incompletely randomize design ทำ 3 ซ้ำ ใช้พืช 2 ชนิด และเติมโลหะหนัก 7 ชนิด (แคดเมียม ทองแดง เหล็ก แมงกานีส นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี) ในรูปเกลืออนินทรีย์ 4 ระดับ สำหรับทดลอง (Treatment) มีดังนี้

หน่วยทดลอง	ตำรับทดลอง
1	ควบคุม(ดินเดิม จากพื้นที่ ไม่เติมสิ่งใด)
2	เติมธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus(1964)
3	เติมปุ๋ยเคมี
4	เติมปุ๋ยเคมี และธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrewและ Fergus (1964)
5	เติมกากตะกอน ณ ระดับ 20 เมตริกตัน/เฮกตาร์ (50 กรัม/กระถาง)
6	เติมกากตะกอน ณ ระดับ 20 เมตริกตัน/เฮกตาร์ (50 กรัม/กระถาง) และธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus (1964)
7 - 10	เติมธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus (1964) ปุ๋ยเคมี และโลหะหนัก 7 ชนิดในรูปเกลืออนินทรีย์ 4 ระดับ

ดังนั้นพืช 1 ชนิด จะมีตำรับทดลองรวม 10 ตำรับ ทำ 3 ซ้ำ รวมเป็น 30 หน่วยทดลอง เมื่อคิดรวมพืช 2 ชนิดแล้ว จะมีหน่วยทดลองทั้งสิ้น 60 หน่วยทดลอง โดยที่ 1 หน่วยทดลองคือ 1 กระถาง

หมายเหตุ

1) ธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus (1964) คือ ธาตุอาหารที่จำเป็นและควรจะมีในดิน นอกเหนือไปจากปุ๋ยที่ใส่ เพื่อมิให้เป็นปัจจัยจำกัดต่อการเจริญเติบโตของพืช รายละเอียดปรากฏในภาคผนวก-ก

2) ปุ๋ยเคมีที่ใช้กับผักคะน้าและผักกาดหอมคือปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 625 กิโลกรัม/เฮกตาร์ (1.56 กรัม/กระถาง)

3.2.2 ขั้นตอนการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนก่อนปลูกพืช ขณะปลูกพืชจนถึงเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยว

3.2.2.1 ขั้นตอนการทดลองก่อนปลูกพืช

1) นำกากตะกอนจาก Anaerobic Digester ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชนห้วยขวางมาตากให้แห้ง ย่อยให้มีขนาดเล็กลง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร

2) นำดินบน (Top Soil) ณ ระดับความลึกประมาณ 1 หน้าพลั่ว (6 นิ้ว) โดยเก็บแบบสุ่มจากหลายจุด แล้วทำตัวอย่างรวม (Composite Sample) จากพื้นที่เกษตรกรรม ตำบลบ้านฉาง อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี บรรจุใส่กระสอบ นำมาผึ่งให้แห้งที่เรือนกระจก ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แล้วทุบให้ย่อยลง หลังจากนั้นจึงร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร

3) เตรียมสารเคมี และวัสดุอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์และในเรือนทดลอง

4) วิเคราะห์สมบัติของกากตะกอน และดินที่จะใช้ทดลองดังนี้

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
1. pH	pH meter
2. อินทรีย์วัตถุ	Walkley and Black method
3. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	kjeldahl method
4. แอมโมเนียมไนโตรเจน (NH_4-N)	Steam distillation and titration
5. ไนเตรทไนโตรเจน(NO_3-N)	Devarda alloy method
6. ฟอสฟอรัส (Available p)	สกัดด้วยน้ำยา Bray II และหาปริมาณด้วย ascorbic acid reduction
7. โปตัสเซียม (Exchangable K)	สกัดด้วย Ammonium acetate หาปริมาณด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (AAS)

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
8. โลหะหนัก ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และแคดเมียม	
8.1 โลหะหนัก 7 ชนิด ในรูปที่สามารถสกัดได้ (Extractable form)	สกัดด้วยน้ำยา 0.005 M DTPA หาปริมาณด้วยเครื่อง AAS
8.2 โลหะหนัก 7 ชนิด ในกากตะกอน (Total form)	Dry ashing หาปริมาณด้วยเครื่อง AAS

(ASA-sssa, 1982; ทัศนีย์ อัตตะนันทน์,จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข และสุรเดช จินตกานนท์,2532)

5) กำหนดระดับความเข้มข้นของโลหะหนักทั้ง 7 ชนิด ในกากตะกอนออกเป็น 4 ระดับ ตั้งแต่ระดับที่สามารถสกัดได้ด้วย 0.005 M DTPA จนถึงระดับที่มีอยู่ทั้งหมดในกากตะกอนสำหรับโลหะหนักแต่ละชนิด แล้วคำนวณปริมาณโลหะหนักในรูปเกลืออนินทรีย์ 4 ระดับที่เติมลงในกระถาง เพื่อให้มีปริมาณโลหะหนักเทียบเท่ากับที่ถูกปลดปล่อยจากกากตะกอน ณ อัตราเติม 20 เมตริกตัน/เฮกตาร์(50 กรัม/กระถาง) ตั้งแต่ในรูปที่พืชสามารถดูดดึงจากกากตะกอนไปใช้ได้ทันทีจนถึงปริมาณโลหะหนักที่มีทั้งหมดในกากตะกอน ดังตารางที่ 3.1

6) คำนวณปริมาณธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus (1964) และปุ๋ยที่จะใส่ในแต่ละกระถาง

7) ชั่งดินใส่ถุง ๆ ละ 5 กิโลกรัม ใส่ไว้ในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว

8) กำหนดรหัสของหน่วยทดลอง ตามตำรับทดลองต่าง ๆ โดยแต่ละรหัสมีความหมายดังนี้

K หมายถึง กระถางที่ปลูกผักคะน้า (Chinese Kale)

L หมายถึง กระถางที่ผลูกผักกาดหอม (Lettuce)

E หมายถึง กระถางที่เติมธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus (1964)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.1 ปริมาณโลหะหนักในรูปเกลืออนินทรีย์ที่เติมลงในกระถางเทียบเท่ากับปริมาณโลหะหนักที่ถูกปลดปล่อยจากกากตะกอน 4 ระดับ

เกลืออนินทรีย์ของโลหะหนัก	ปริมาณโลหะหนักที่เติมลงในกระถางเทียบเท่ากับปริมาณโลหะหนักที่ถูกปลดปล่อยจากกากตะกอน 4 ระดับ			
	โลหะหนักระดับที่1	โลหะหนักระดับที่2	โลหะหนักระดับที่3	โลหะหนักระดับที่4
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (กรัม)	0.0322	1.1652	2.2983	3.4313
$MnCl_2.4H_2O$ (มิลลิกรัม)	7.7450	41.2611	74.7772	108.2950
$ZnCl_2$ (มิลลิกรัม)	94.8340	187.4368	279.6967	372.1276
$CuCl_2.2\ H_2O$ (มิลลิกรัม)	0.1637	18.1815	36.1979	54.2157
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (มิลลิกรัม)	2.5960	3.0718	3.5436	4.0155
$Pb(NO_3)_2$ (มิลลิกรัม)	0.0448	3.8460	7.6472	11.4493
$CdCl_2.2½\ H_2O$ (มิลลิกรัม)	0.0203	0.1320	0.2438	0.3555

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

F หมายถึง กระถางที่เติมปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 625 กิโลกรัม/เฮกตาร์ (1.56 กรัม/กระถาง)

S หมายถึง กระถางที่เติมกากตะกอน 20 เมตริกตัน/เฮกตาร์ (50 กรัม/กระถาง)

LI หมายถึง กระถางที่เติมโลหะหนักในรูปคลอไรด์ระดับที่ 1

LII หมายถึง กระถางที่เติมโลหะหนักในรูปคลอไรด์ระดับที่ 2

LIII หมายถึง กระถางที่เติมโลหะหนักในรูปคลอไรด์ระดับที่ 3

LIV หมายถึง กระถางที่เติมโลหะหนักในรูปคลอไรด์ระดับที่ 4

9) เติมธาตุอาหารพืชที่จำเป็นตามสูตรของ Andrew และ Fergus (1964) ปุ๋ยกากตะกอนและโลหะหนักในรูปคลอไรด์ 4 ระดับ ให้ถูกต้องตรงกับรหัสที่ติดไว้ที่แต่ละถาง แล้วทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ ตั้งแต่ขั้นตอนนี้จนถึงเก็บเกี่ยวจะต้องวิเคราะห์ pH, NH_4^+-N, และ NO_3^--N ทุก 2 สัปดาห์

10) จัดทำผังจัดเรียงกระถางโดยสุ่มแบบไม่สมบูรณ์ (Incomplete Randomized) ทั้ง 60 หน่วยทดลอง รายละเอียดได้แสดงไว้ในรูปที่ 3.1

3.2.2.2 <u>ขั้นตอนการทดลองขณะปลูกพืชจนถึงเก็บเกี่ยว</u>

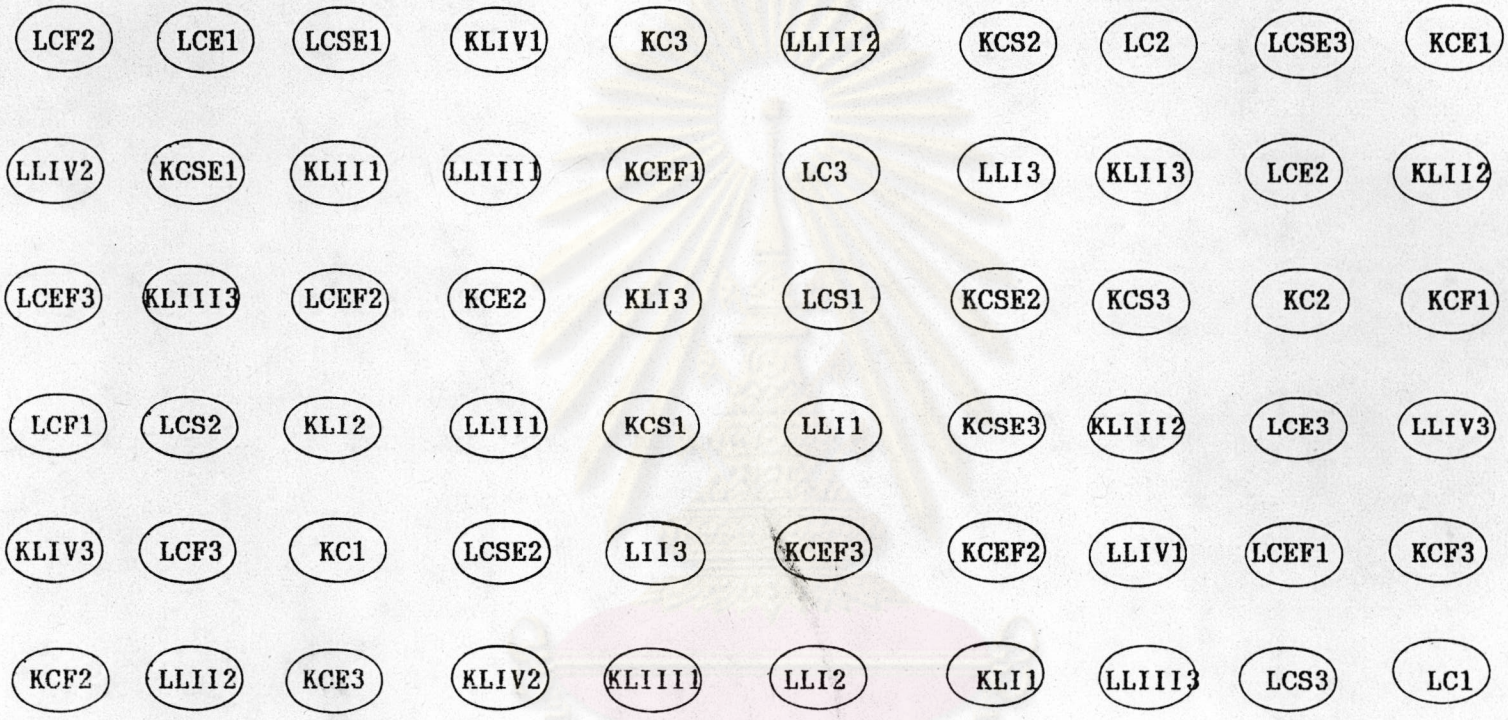
1) หาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักคะน้าและผักกาดหอม เพื่อสามารถคาดคะเนจำนวนเมล็ดของพืชแต่ละชนิดที่จะหว่านลงในกระถาง ซึ่งจะให้ต้นอ่อนเพียงพอที่จะถอนแยกเพื่อคัดเลือกต้นที่แข็งแรงต่อไป

2) เพาะเมล็ดของพืชทั้งสองชนิดโดยหว่านลงในบริเวณกลางกระถาง

3) ปฏิบัติดูแลพืชทั้งสองอย่างสม่ำเสมอ การรดน้ำจะใช้ระดับ Field Capacity เป็นเกณฑ์ และบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ในระหว่างทำการทดลอง เช่น อุณหภูมิและความชื้น

4) ถอนแยกเอาต้นที่อ่อนแอและไม่สมบูรณ์ทิ้งไป เหลือต้นที่แข็งแรงไว้ 1 ต้น สำหรับผักกาดหอมจะถอนแยกเมื่อมีใบจริง 2-3 ใบ ส่วนผักคะน้าจะถอนแยกเมื่อมีอายุประมาณ 24 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 ผังการจัดเรียงหน่วยทดลองโดยสุ่มแบบไม่สมบูรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5) เก็บเกี่ยวผักกาดหอมและผักคะน้าเมื่อเจริญเติบโตเพียงพอที่จะเก็บเกี่ยวได้

6) ในระหว่างปลูกพืชเก็บตัวอย่างดินทุก 2 สัปดาห์ โดยเก็บตัวอย่างรวม (Composite Sample) จากทั้ง 3 หน่วยทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่า pH แอมเนียมไนโตรเจนและไนเตรตไนโตรเจน

3.2.2.3 ขั้นตอนการทดลองหลังการเก็บเกี่ยว

1) ชั่งน้ำหนักสดของผักทั้งสองชนิดจากแต่ละกระถาง บันทึกผลไว้

2) นำพืชที่เก็บเกี่ยวได้จากแต่ละกระถางมาล้างด้วยน้ำตามด้วยน้ำกลั่นและอบให้แห้ง

3) ชั่งน้ำหนักแห้งของผักทั้งสองชนิดจากแต่ละกระถาง บันทึกผลไว้

4) นำตัวอย่างพืชที่แห้งแล้วไปวิเคราะห์โลหะหนักทั้ง 7 ชนิด

5) เก็บตัวอย่างดินจากแต่ละกระถางนำไปวิเคราะห์โลหะหนักทั้ง 7 ชนิด

6) รวบรวมข้อมูล นำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis of variance เพื่อหา F-value และเปรียบเทียบความแตกต่างของตำรับทดลองโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย